**CytoFLEX**

**每 日 开 机 程 序**

**1 开机前检查**

* 1.  **检查鞘液桶，确认：**
* 鞘液桶内装有足量鞘液，同时不超过指示上限。如使用灭菌纯水为鞘液时，需加入适当量**抑菌防腐剂**在鞘液桶内【建议使用原装鞘液】，防止鞘液桶及仪器流路管路长菌。
* 防腐剂配方：Proclin 3000 0.05% w/v;2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮 0.05%；2-苯氧乙醇 0.2-0.5% w/v;氟化钠 0.3 g/L。
	1. **检查废液桶，确认：**
* 清空废液桶
* 如果需要检测有生物危害性的样本，废液桶内加入 400ml 次氯酸钠原液。
1. **打开电源**

打开位于仪器后面的电源开关，仪器通电。电源指示灯亮。可以听到“滴”一声轻响，工作站电源打开，等待工作站启动、系统启动完毕。

**3打开软件**

**3.1** 打开电脑，双击桌面CytExpert图标打开仪器，CytExpert软件界面出现。

**3.2**确保软件界面左下角连接指示灯应为绿色，左侧显示“已连接”，表示连接正常；左侧为连接状态，中间为仪器状态，右侧为状态信息。

***注意：***连接指示灯为红色表示联机工作不正常。确认仪器电源已正常打开，连线正确，保证仪器USB牢固连接到计算机，并重新启动计算机。

**4初始化仪器**

**4.1** 在**“细胞仪”**菜单中选择**“开机流程”**程序。

**4.2** 出现开机流程程序窗口，选择初始化。

**4.3** 等待系统初始化。按照屏幕上的软件提示，然后选择启动，并按照软件指示完成仪器初始化。

**4.4** 在初始化结束后，选择关闭以退出启动程序。现在系统被初始化。

 4.4.1 现场配置有效氯浓度的1%~2%的次氯酸钠溶液1~2ml，并将其过滤备用【建议购买的花王白色衣服专用漂白剂（以下简称花王漂白剂），可直接取原液过滤备用】；

 4.4.2 新建实验方案，将上样速度调整为高速；

 4.4.3 将配置好的次氯酸钠溶液置于样本架，并点击运行5min【可根据实际情况延长/减少时间】后停止上样；

 4.4.4 取2~3ml灭菌纯水置于样本架，并点击运行5~10min【可根据实际情况延长/减少时间】后停止上样；

**4.5** 排除流动室气泡

**4.5.1**确认仪器处于待机状态。如果为非待机状态，可以选择**“细胞仪”**菜单下的**“待机”**，或是直接点击数据获取控制界面上的**“待机”**键设置。

**4.5.2**选择**“细胞仪”**菜单下的**“排气泡”**，运行气泡排除程序，等到“滴”声，并指示窗口消失，或是看到状态指示栏提示结束。

**注意：在检测过程中遇到信号不佳，怀疑可能有气泡的时候，也可以运行排除气泡程序；如怀疑管路可能有样品残留时，可采取1%~2%的次氯酸钠溶液和去离子水冲洗管路，参考4.4步骤。**

**CytoFLEX**

**每 日 关 机 程 序**

******

**1 准备清洗液**

* 1. **需要的材料**
* 12x75mm 上样管
* 有效率浓度为1%~2%的次氯酸钠溶液【需过滤】
* 清洗液
* 0.2μm 过滤去离子水

**1.2** 分别取1%~2%的次氯酸钠溶液、清洗液、去离子水备用。

**2 清洗仪器**

**2.1** 打开 CytExpert 软件，确认已经联机，并且已初始化仪器。

2.2 新建实验方案，将上样速度调整为高速；

2.3 将配置好的次氯酸钠溶液置于样本架，并点击运行5min【可根据实际情况延长/减少时间】后停止上样；

2.4 取2~3ml灭菌纯水置于样本架，并点击运行5~10min【可根据实际情况延长/减少时间】后停止上样

**2.5** 选择**“细胞仪”**菜单下的**“每日清洗”**，运行清洗程序。

**2.6** 将 2mL 清洗液放置在上样座，选择运行，默认清洗时间为3分钟。

**2.7** 等待结束后，将3mL去离子水管放置在上样位置，点击运行，进行第二步清洗。默认清洗时间5分钟。

**2.8** 等待结束后，取下样本管。关闭每日清洗窗口。

**3 关机**

**3.1** 退出软件，仪器会自动处于待机状态。

**3.2** 关闭计算机。

**3.3** 关闭仪器主电源开关。

**长期关机程序**

 用户常错误地认为，仪器不用的时候，不要去开启它的电源，这样可以延长它的寿命。事实恰恰相反，所有的仪器，开的越多故障发生率就越低，(某些部件有时间寿命除外)。我们建议用户每周至少开机1-2次。如果实在没有样本，请开机后，以蒸馏水为样本运行15分钟后关机。如确有需要超过一个月以上停机，请执行以下长期关机程序：

1．取下鞘液桶和清洗液瓶，倒空液体。

2．以蒸馏水冲洗鞘液桶和清洗液瓶。

3．将鞘液桶和清洗液瓶重新放回仪器内，并在内均注满0.22μm滤膜滤过的蒸馏水。

4．全部使用蒸馏水执行每日清洗程序（至少3次，以保证将管路内含盐鞘液充分清洗干净）。

5．运行排气泡三次

6. 正常关机，切掉所有电源。

当重新启用仪器时，需执行以下程序：

1．清洗鞘液桶和清洗液瓶；

2．将鞘液桶内充满鞘液，清洗液瓶充满Con70:蒸馏水=1:1的洗液；

3．执行每日清洗程序；

4．在运行样本前，执行QC质控程序。

**CytoFLEX**

**日 常 保 养 与 维 护**

为了保证CytoFLEX 流式细胞仪的正常运转和测定结果的可靠，仪器的日常保养与维护必不可少。

|  |  |
| --- | --- |
| **保 养 内 容** | **推 荐 频 率** |
| 1、添加鞘液、清洗液 | 每天开机前检查液面水平，如需要及时添加 |
| 2、清空废液桶 | 每天开机前检查废液的液面水平，如需要倒空废液桶 |
| 3、排气泡 | 无论何时，更换溶液时或做其他保养时，要执行该程序 |
| 4、鞘液桶 | 每月 |
| 5、清洗液瓶 | 每月 |
| 6、深度清洗 | 每周 |

**清洗液的选择**

* 漂白剂——NaClO溶液：流式细胞仪的常规清洗用液。漂白剂须经0.22μm滤膜或滤纸过滤后，稀释至有效氯浓度1%-2%，现用现配。
* Contrad 70 洗液：深度清洗专用洗液。每次以Contrad 70 洗液:蒸馏水=1:1的比例配置30ml左右工作液,一般1个月更换一次(如果使用频率高,更换工作液频率可提高)
* 蒸馏水：为了防止管路内残留有清洗液，形成结晶或造成管路接口的腐蚀，在使用清洗液清洗完毕后，一定要用蒸馏水，再次冲洗管路。蒸馏水必须以0.22μm滤膜过滤后备用。

**仪器日常维护**

* 每日实验结束后，请于关机前执行每日清洗程序,清洁样本针及进样管路，防止样本针及进样管路堵塞或有染料残留；同时用75%的酒精擦拭样品台表面以及半自动上样器底座
* 在使用了一些荧光染（如PI、EB、AO、TO等）后，需要立即使用Beckman Coulter 的Cleanz液跑5min,然后换成蒸馏水跑5min;
* 当观察到细胞碎片明显增加或背景噪音明显增加时，说明样本针及进样管路中有大量碎片或蛋白残留，应及时进行清洗程序。

清洗过程如下：

1. 现场配置有效氯浓度的1%~2%的次氯酸钠溶液1~2ml，并将其过滤备用【建议购买的花王漂白剂，可直接取原液过滤备用】；
2. 新建实验方案，将上样速度调整为高速；
3. 将配置好的次氯酸钠溶液置于样本架，并点击运行至少5min后停止上样；
4. 取2~3ml灭菌纯水置于样本架，并点击运行5~10min【可根据实际情况延长/减少时间】后停止上样；

**定期维护**

需要定期进行仪器检查和清洁，

* 鞘液滤器的更换：定期更换鞘液过滤器，以保证能有效过滤鞘液内的杂质，保障液路正常稳定。厂家建议更换鞘液过滤器的周期为6个月【可根据实际情况进行更换】。
* 蠕动泵管的更换: 厂家建议的更换周期为6个月【可根据实际情况进行更换，如果使用频率非常高，可以提前自备蠕动泵管】。

**样本的处理**

样本上样前,必须经过过滤去除聚集物,防止样本上样针的堵塞,可采用300目的细胞筛过滤细胞样本.

**上样针的维护**

由于1.5ml的EP管材质不均一,所以上样前先将EP管盖子剪掉,然后将EP管放在上样底座正中央,不可歪斜放置EP管,以免造成上样针的损伤.

**仪器QC及验证操作**

质控实验将能够确认您的仪器是否能够保证足够的信号强度及信号精度。推荐每次开机进行一次质控确认仪器工作正常，以确保获得准确的实验数据。

****

**1 准备质控样本**

* 1. **需要的材料**
* 12x75mm 上样管
* Cyto-CalTM+ Violet Alignment & Set-up Beads 荧光微球
* 0.2μm 过滤去离子水

**1.2** 取0.5mL去离子水加入12×75mm的试管，再加入充分混匀的荧光微球1-2滴，混匀。

**2 进入QC实验界面**

**2.1** 打开 CytExpert 软件，确认已经联机，并且已初始化仪器。

**2.2** 选择**“质控”**菜单下的**“启动质控”**，运行QC程序。

**3 QC设置**

**3.1** 在 QC 设置界面上在批号下拉菜单中选择正确的质控品批号。



***注意：***不同批号对应有不同的靶值信息，选择错误的批号会导致错误的QC结果。

**4 获取数据**

**4.1** 点击**“初始化”**。

**4.2** 将准备好的质控样本管放入样本管支架。

**4.3** 点击**“开始”**上样，并进入QC实验界面。

**4.4** 软件左侧会显示运行过程，右侧会出现图形。质控实验将依次进行检测配置、激光功率、延迟、信号强度、信号变异系数、本底背景信号。

**4.5** 运行过程中，软件将自动寻找质控微球全体，并获取计算数据结果。等待QC实验过程结束，并回到QC设置界面。

***注意：***如果上样速度过低，软件在运行过程中可能会自动停止进样并落下样本管，出现提示信息。如果出现此情况，请提高样本浓度再进行实验。

**5 确认结果**

 回到QC设置界面，任何时候均可回顾完成的检测结果

**5.1** 点击左侧QC结果列表，右侧即出现检测报告。结果栏显示为 的表示通过，显示为的表示失败。

**5.2** 右侧的报告区域会显示具体的测试结果，分别显示激光的功率、延迟、检测条件和信号结果。同样会以和标明各项结果。对于没有通过的项目，超出范围的值将以红色字体标明。在comment 区，会对未通过项目进行说明。

***注意：***如果质控未通过，请按以下流程检查

 1. 使用的微球是否在效期内，并按照说明书要求保存

 2. 配置的样本管是否按要求正确处理并放置

 3. 完成一次排气泡流程并再次检测

 4. 完成一次清洗流程并再次检测

 5. 若经以上处理后，质控仍然未通过，请咨询维修工程师